

枳椇子(枳椇)

(HOVENIAE SEMEN)

枳椇子(枳椇) MI	2
一、藥材採購及鑑定	2
二、藥材性狀描述 (圖1)	2
三、藥材組織顯微鑑別 (圖2)	2
四、藥材粉末顯微鑑別 (圖3)	3
枳椇子(枳椇) HPLC (藥材)	8
一、材料	8
二、儀器及層析管柱	8
三、實驗藥品及試劑來源	8
四、方法	8
五、結果	11
枳椇子(枳椇) TLC	23
一、方法	23
二、萃法選擇及濃度測試	24
三、溶媒系統選擇	25
四、觀察方式選擇	28
五、十批枳椇子藥材樣品檢測	29

枳椇子(枳椇) MI

一、藥材採購及鑑定

收集 10 批來自全臺北、中、南、東各地不同通路之中藥販賣業或中藥製造業的藥材樣品，確認所收集之藥材為枳椇子(南枳椇)的乾燥種子。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：枳椇子

生藥名：HOVENIAE SEMEN

英文名：Raisin Tree Seed

基原：本品為鼠李科 Rhamnaceae 植物枳椇 *Hovenia acerba* Lindl.之乾燥成熟種子。

採收加工：10~11 月果實成熟時連肉質果柄一並摘下，乾燥後，碾碎果殼，取出種子，曬乾即得。

藥材性狀：枳椇：本品呈扁圓形，表面平滑或可見散在小凹點，有光澤；表面暗褐色、黑紫色、紅棕色、棕黑色或黃棕色。直徑 3.2~4.5 mm，厚 1.0~2.5 mm。基部凹處有點狀淡色種臍，頂端有微凸的合點，腹面有一條縱行隆起的種脊。種皮堅硬，胚乳乳白色，子葉淡黃色，氣微，味微澀。

生長分佈：高大喬木，生於海拔 2100 公尺以下的山坡林、疏林中或陽光充足的溝邊、路邊和山谷中。喜溫暖、濕潤、陽光充足、潮濕的環境，生長適溫 20~30 度，對土壤要求不嚴，酸性、鹼性地均能生長，適應性較強。花期 5~7 月，果期 8~10 月。分佈於中國華北、華中、華東、中南、西南、西北等地及日本、韓國、印度、尼泊爾、不丹和緬甸北部。藥材主產於中國福建、廣東、廣西、湖南、湖北、四川、雲南及貴州等省。

三、藥材組織顯微鑑別 (圖 2)

1. 種皮外表皮為 1 列柵狀細胞，呈長方形，外被角質層，靠外側有一條明顯的光輝帶。
2. 色素層細胞多列，外側數列色素細胞呈近卵形或多角形，含棕色或紅棕色物，有時內側數列薄壁細胞，不含色素。
3. 種皮內表皮由 1 列薄壁細胞組成。
4. 外胚乳細胞頹廢。
5. 內胚乳細胞壁厚，含糊粉粒，可見圓簇狀小結晶及較多脂肪油。
6. 子葉細胞壁薄，含圓簇狀小結晶及糊粉粒。圓簇狀小結晶大多分佈於子葉的表皮或近表皮處，子葉內部薄壁細胞亦有少數散在。
7. 種脊維管束位於兩端之種皮薄壁細胞中。

四、藥材粉末顯微鑑別 (圖 3)

1. 本品粉末淺棕色至深棕色。
2. 種皮柵狀細胞表面觀呈多角形，壁厚，胞腔小；側面觀呈長條形，排列緊密，外被角質層，光輝帶明顯；偏光顯微鏡下呈多彩狀。
3. 色素細胞近卵形或多角形，含棕色或紅棕色物。
4. 子葉細胞類長方形或長卵形，壁薄，含圓簇狀小結晶、糊粉粒及油滴。
5. 圓簇狀小結晶散布於胚乳及子葉細胞中，偏光顯微鏡下呈亮白色。
6. 草酸鈣簇晶散佈於胚乳細胞中，直徑 7~14 μm ，偏光顯微鏡下呈亮白色。
7. 草酸鈣方晶散佈於胚乳細胞中，直徑 5~10 μm ，偏光顯微鏡下呈多彩狀。

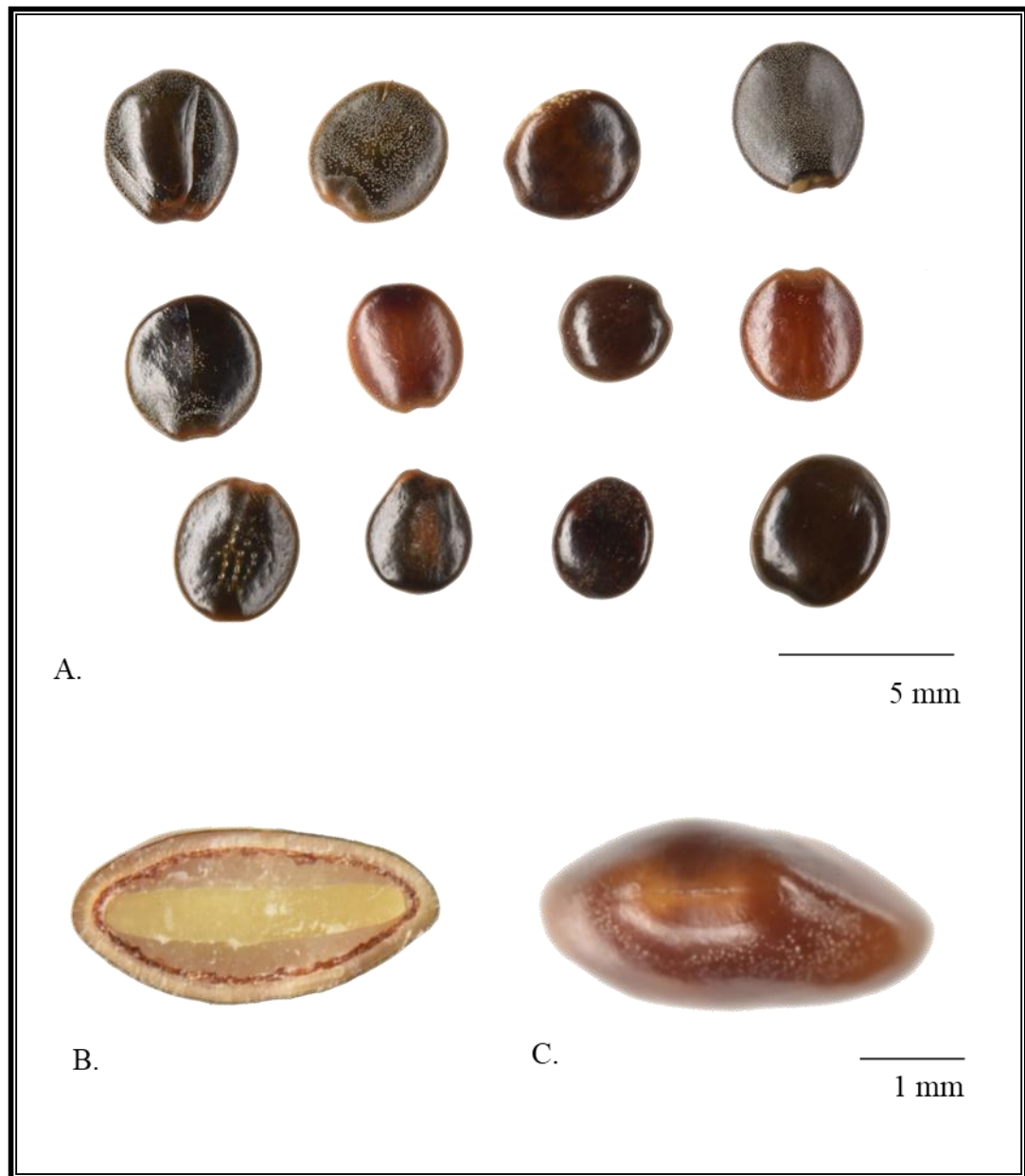


圖 1 枳椇子藥材圖

A.藥材圖 B.橫切面放大圖 C.基部(種臍)

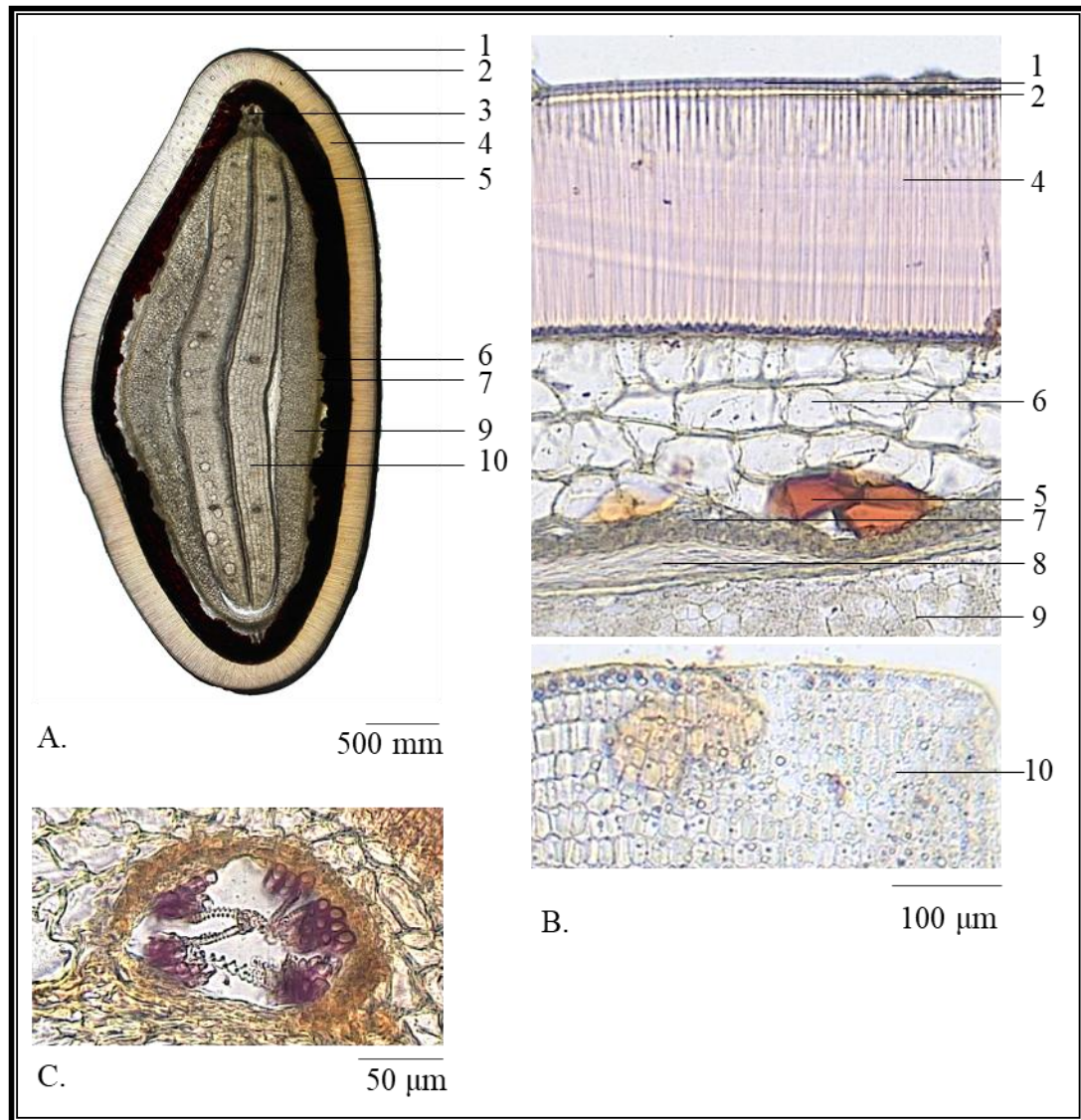


圖 2 枳椇子橫切面顯微特徵圖

A.橫切面 B.橫切面放大圖 C.種脊維管束

1.角質層 2.光輝帶 3.種脊維管束 4.柵狀組織 5.色素層 6.薄壁細胞
7.種皮內表皮 8.外胚乳 9.內胚乳 10.子葉

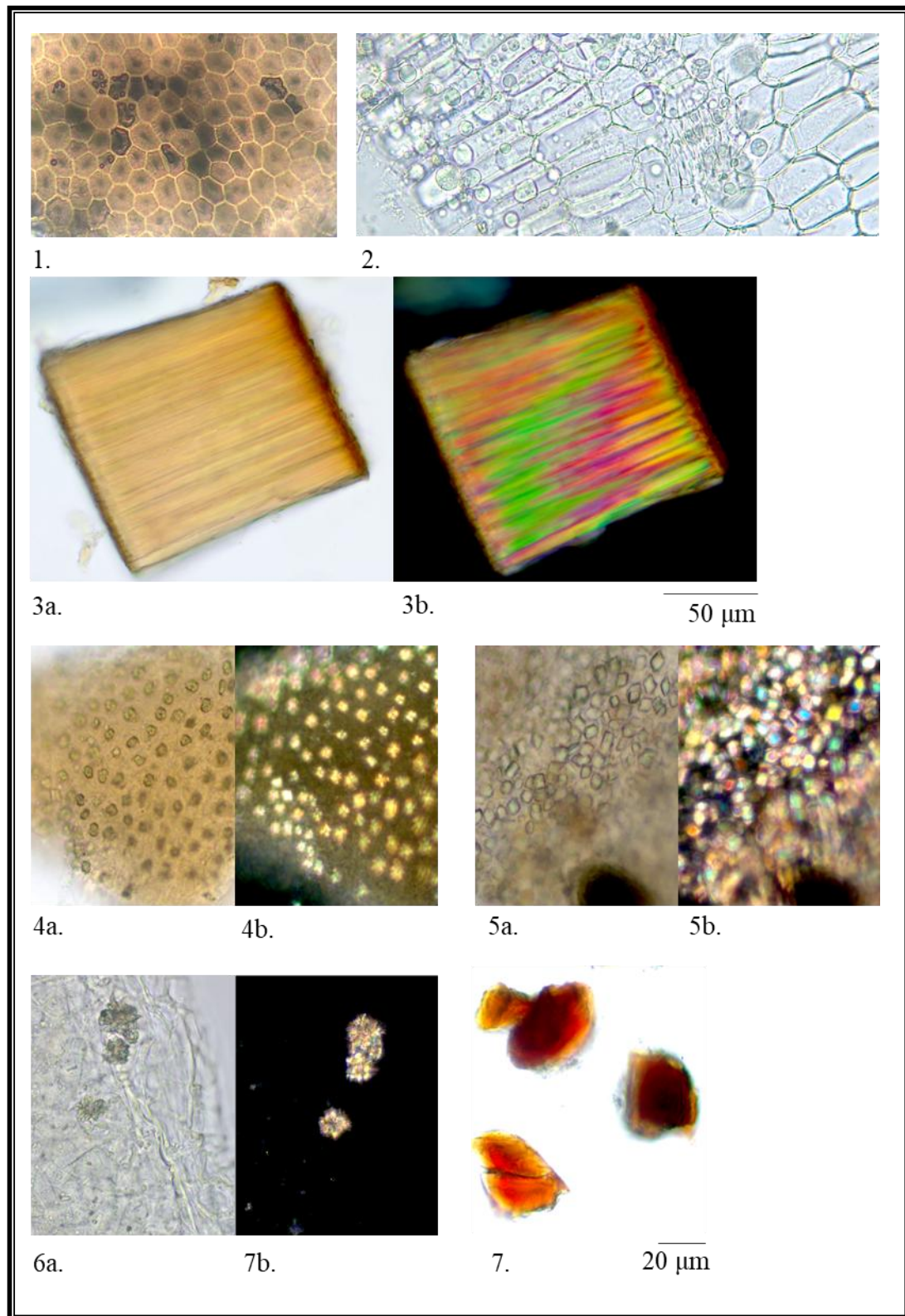


圖 3 枳椇子粉末顯微特徵圖

a. 光學顯微鏡下特徵 b. 偏光顯微鏡下特徵

1. 外種皮柵狀細胞(表面觀) 2. 子葉細胞(油滴) 3. 外種皮柵狀細胞(側面觀)

4. 圓簇狀小結晶 5. 草酸鈣方晶 6. 草酸鈣簇晶 7. 色素細胞

參考文獻

1. 衛生福利部臺灣中藥典第四版編輯工作小組(2021)。臺灣中藥典第四版。台北市：衛生福利部。204-205 頁
2. 中國植物志編輯(1982)。中國植物誌第四十八卷。88-91 頁
3. 屠鵬飛(主編)(2020)。新編中國藥材學第三卷。中國醫藥科技出版社。167-170 頁。
4. 艾鐵民(主編)(2020)。中國藥用植物志第六卷。北京大學醫學出版社。390-398 頁。
5. 陳士林、林余霖(主編)(2016)。中國藥用植物原色圖鑑第二冊。海峽出版發行集團。943-945 頁。
6. 張繼(主編)(2021)。中國中藥材及飲片真偽鑑別圖典第三冊。廣東科技出版社。204-285 頁。
7. 王滿恩、王丕明、孟武威(2020)。飲片驗收經驗非藥典品。山西科學技術出版社。103-104 頁
8. 陳代賢、郭月秋(主編)(2012)。中藥真偽質量快速影像檢定。中國農業出版社印刷廠。569-571 頁。
9. 中華人民共和國香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部(2018)。香港中藥材標準第九冊。香港：香港特別行政區政府衛生署中醫藥事務部。188-198 頁。
10. 肖培根(主編)(2002)。新編中藥志第二卷。北京：化學工業出版社。464-468 頁。
11. 張春風(主編)(2019)。常見植物拉丁學名釋義。中國環境出版集團。106 頁。
12. 宋立人(1999)。中華本草(第五卷)。上海科學技術出版社。238-240 頁。
13. 王國強(主編)(2014)。全國中草藥匯編(卷二)(第三版)。北京：人民衛生出版社。717-718 頁。

枳椇子(南) (GLEDITSIAE FRUCTUS ABNORMALIS)

一、材料

購置於臺灣各地枳椇子(南枳椇)藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu LC-2060C 3D, 包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector；層析管柱 SHIMADZU shim-pack GIST (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu LC-2060C 3D, 包含 Quaternary pump、Autosampler、Thermostatted column compartment、Diode-Array Detector；層析管柱 SHIMADZU shim-pack GIST (100 × 2.1 mm, 1.9 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(HPLC grade)購置於友和貿易股份有限公司；乙酸購置於台灣默克有限公司。

(二) 對照標準品

二氫楊梅素(Dihydromyricetin) CAS No. 27200-12-0, 純度為 98.78%, Lot No. 20250830, 普思生物科技有限公司(購於昇漢科技有限公司)。

四、方法

(一) 最佳萃取溶媒評估

取本品粉末 6 份，每份準確稱取約 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇、75%甲醇、50%甲醇、乙醇、75%乙醇、50%乙醇各 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 4000 × g)，取上清液過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，以所測得進注量之二氫楊梅素最大波峰面積為最佳枳椇子藥材萃取溶媒。

(二) 最佳萃取次數評估

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入甲醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，

離心 10 分鐘(約 $4000 \times g$)，以 No.1 濾紙過濾，取濾液移入 25 mL 之容量瓶中，加甲醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。每針 10 μL 注入 HPLC，殘渣部分重複上述方法多次萃取、進樣，直到二氫楊梅素被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

準確稱取對照標準品二氫楊梅素 2.0 mg，加 4.0 mL 的甲醇製成每 1 mL 含二氫楊梅素 500 μg 的對照標準品儲備溶液，並以甲醇稀釋至二氫楊梅素 100 $\mu\text{g/mL}$ 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

準確稱取本品粉末(過第 20 號篩網)約 1.0 g，置 50 mL 離心管中，準確加入 50%乙醇 25 mL，超音波振盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 10 分鐘(約 $4000 \times g$)，以 No.1 濾紙過濾，殘渣部分重複提取 1 次，合併濾液，移入 50 mL 之容量瓶中，加 50%乙醇至刻度，搖勻再過濾(Syringe filter, PTFE 0.45 μm)，即得。

(五) 測定法

分別準確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 μL ，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算檢品溶液中二氫楊梅素的含量，即得。

(六) 檢量線

準確吸取二氫楊梅素對照標準品儲備液適量(500 $\mu\text{g/mL}$)，以甲醇稀釋成含二氫楊梅素分別為 500、200、100、50、25 $\mu\text{g/mL}$ 的對照標準品溶液。以上溶液各取 10 μL 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用對照標準品之波峰面積(y 軸)和對照標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式 $y = ax + b$ 與相關係數 R^2 。

(七) 精密度試驗

以二氫楊梅素為 100 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣 5 針，以二氫楊梅素的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 重複性與穩定性試驗

1. 重複性：取同一批市售枳椇子藥材粉末，依枳椇子藥材檢品溶液製備方法平行製備 5 份枳椇子藥材檢品溶液，進樣測定，以二氫楊梅素的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售枳椇子藥材粉末，依枳椇子藥材檢品溶液製備方法製備枳椇子藥材檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以二氫楊

梅素的含量為指標，求出相對標準差。

(九) 偵測極限與定量極限試驗

1. 偵測極限(Limit of Detection, LOD)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 3:1$ 時之濃度，作為偵測極限估計值。
2. 定量極限(Limit of Quantification, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知二氫楊梅素含量的枳椇子藥材粉末 5 份，每份準確稱取約 0.2 g，分別加入二氫楊梅素 1.0 mg，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管：SHIMADZU shim-pack GIST (250 × 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 290 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：30 °C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	35	65
20	35	65

(十二) 臺灣市售枳椇子藥材含量測定

取 10 批市售枳椇子藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μ L 連續 3 針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品二氫楊梅素的百分比含量。

(十三) 枳椇子檢品之 UPLC 分析條件

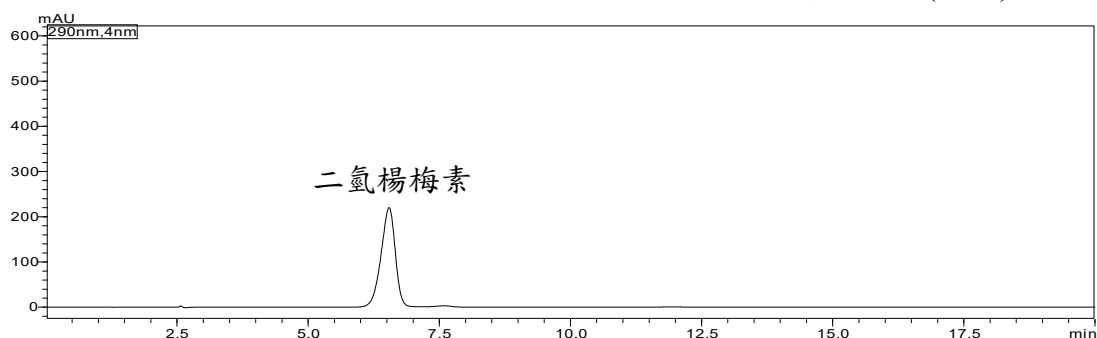
1. 層析管：SHIMADZU Shim-pack GIST (100 × 2.1 mm, 1.9 μ m)
2. 檢測波長：UV 290 nm
3. 流速：0.3 mL/min
4. 管柱溫度：30 °C
5. 注入量：1 μ L
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%)	水(%)
0	35	65
15	35	65

五、結果

(一) 對照標準品二氫楊梅素之 HPLC 層析

於滯留時間 6.54 分鐘處顯示二氫楊梅素對照標準品波峰(圖一)。

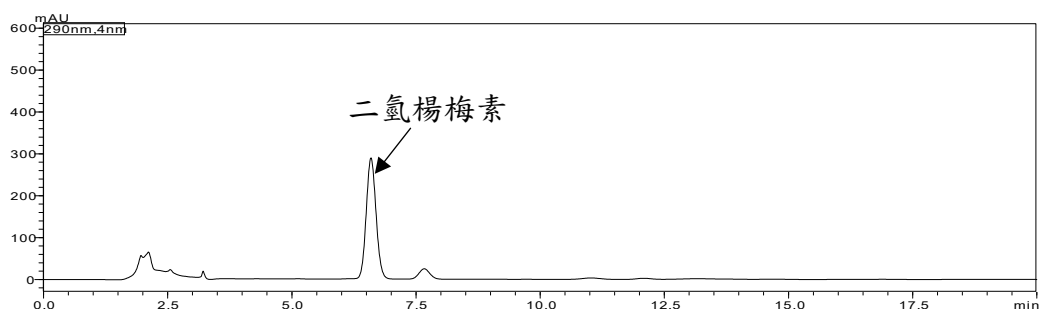


圖一、二氫楊梅素對照標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售枳椇子藥材檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 6.50 分鐘處顯示枳椇子藥材檢品中二氫楊梅素波峰(圖二)。

二氫楊梅素分離率(R)為 3.89，拖尾因子(T)為 1.03，均在系統適用性要求內。



圖二、市售枳椇子藥材檢品之 HPLC 層析圖

(三) 最佳萃取溶媒評估

以 50%乙醇溶液為溶媒時，每單位進注量所得二氫楊梅素的波峰面積最高，顯示 50%乙醇溶液為最佳萃取溶媒(表一)。

表一、不同萃取溶媒評估

溶媒	二氫楊梅素波峰面積	最佳萃取
甲醇	2743367	
75% 甲醇	5428618	
50% 甲醇	12110821	
乙醇	799230	
75% 乙醇	9942061	
50% 乙醇	16337790	√

(四) 最佳萃取次數評估

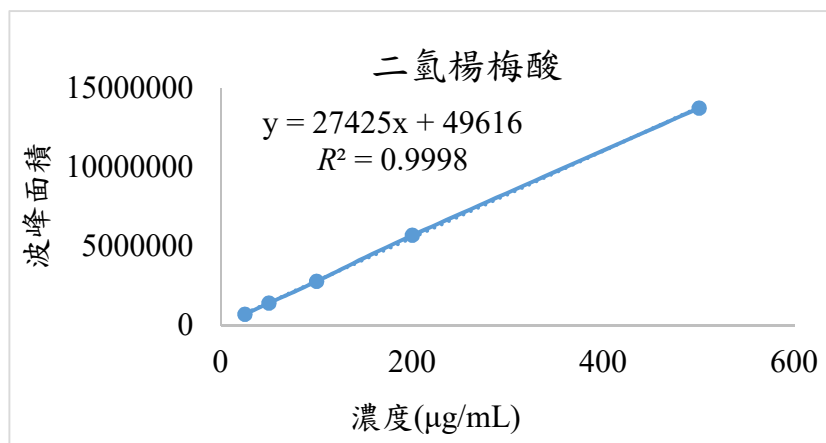
結果顯示萃取 2 次基本上已將二氫楊梅素萃取完全(萃取率大於 98%)
(表二)。

表二、枳椇子藥材檢品萃取次數評估

50%乙醇	二氫楊梅素波峰面積
第 1 次	19261763
第 2 次	2779318
第 3 次	313252
第 4 次	75556

(五) 對照標準品二氫楊梅素檢量線

經不同濃度二氫楊梅素(x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為 $y = 27425x + 49616$, $R^2 = 0.9998$, 顯示濃度在 25–500 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、二氫楊梅素之檢量線圖

表三、二氫楊梅素之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
二氫楊梅素	25–500	$y = 27425x + 49616$	0.9998

(六) 精密度試驗

實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，二氫楊梅素精密度之相對標準差為 0.45%，在系統適用性要求內。

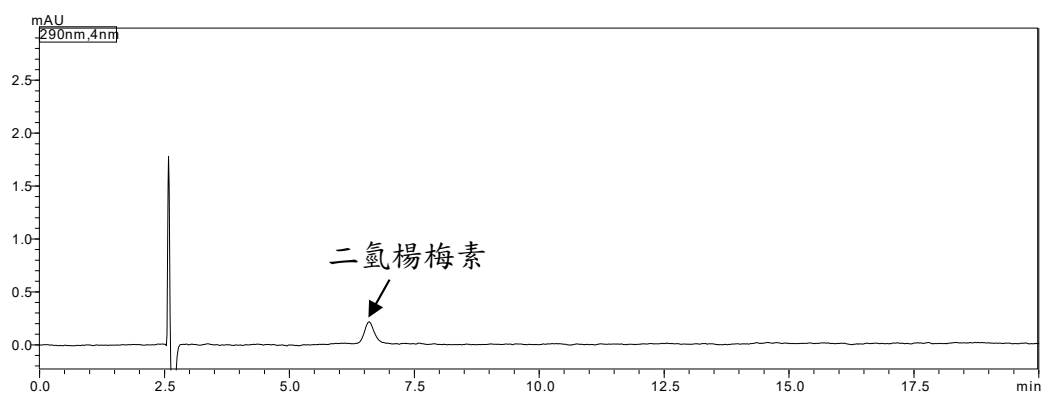
(七) 重複性與穩定性試驗

實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的重複性良好，二氫楊梅素重複

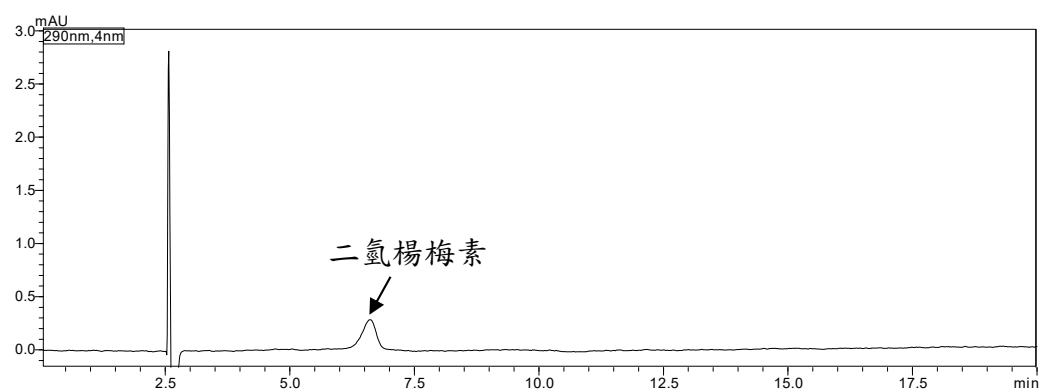
性之相對標準差為 0.54%，在系統適用性要求內。二氫楊梅素在 24 小時內穩定，穩定性相對標準差為 0.40%，變化差異小，若所有樣品分析都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

二氫楊梅素偵測極限為 0.05 $\mu\text{g/mL}$ (圖四)，定量極限為 0.10 $\mu\text{g/mL}$ (圖五)。



圖四、二氫楊梅素之偵測極限層析圖



圖五、二氫楊梅素之定量極限層析圖

表四、各項檢驗分析

檢測項目	二氫楊梅素	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	100 $\mu\text{g/mL}$	0.45
重複性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	0.54
穩定性 (n=5)	檢品溶液(No.8)	0.40
偵測極限(n=1)	0.05 $\mu\text{g/mL}$	-
定量極限(n=1)	0.10 $\mu\text{g/mL}$	-

(九) 添加回收率試驗

二氫楊梅素平均添加回收率為 103.9%，相對標準偏差為 2.01% (表五)。

表五、二氫楊梅素添加回收率

編號	藥材稱重 (g)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.2001	1.5942	1.0	2.6358	104.16	103.9	2.01
2	0.2003	1.5958	1.0	2.6441	104.83		
3	0.2009	1.6022	1.0	2.6673	104.52		
4	0.2005	1.6054	1.0	2.6355	103.01		
5	0.2004	1.6078	1.0	2.6169	100.91		

(十) 臺灣市售枳椇子藥材含量測定

10 批枳椇子藥材之含量測定結果(乾燥品)如表七所示，二氫楊梅素的含量為 0.029-1.545%，建議二氫楊梅素的總含量不得少於 0.42%。理論板數按二氫楊梅素波峰計算應不低於 5000 (實際值為 7291)。

表七、臺灣市售枳椇子藥材檢品之二氫楊梅素的含量

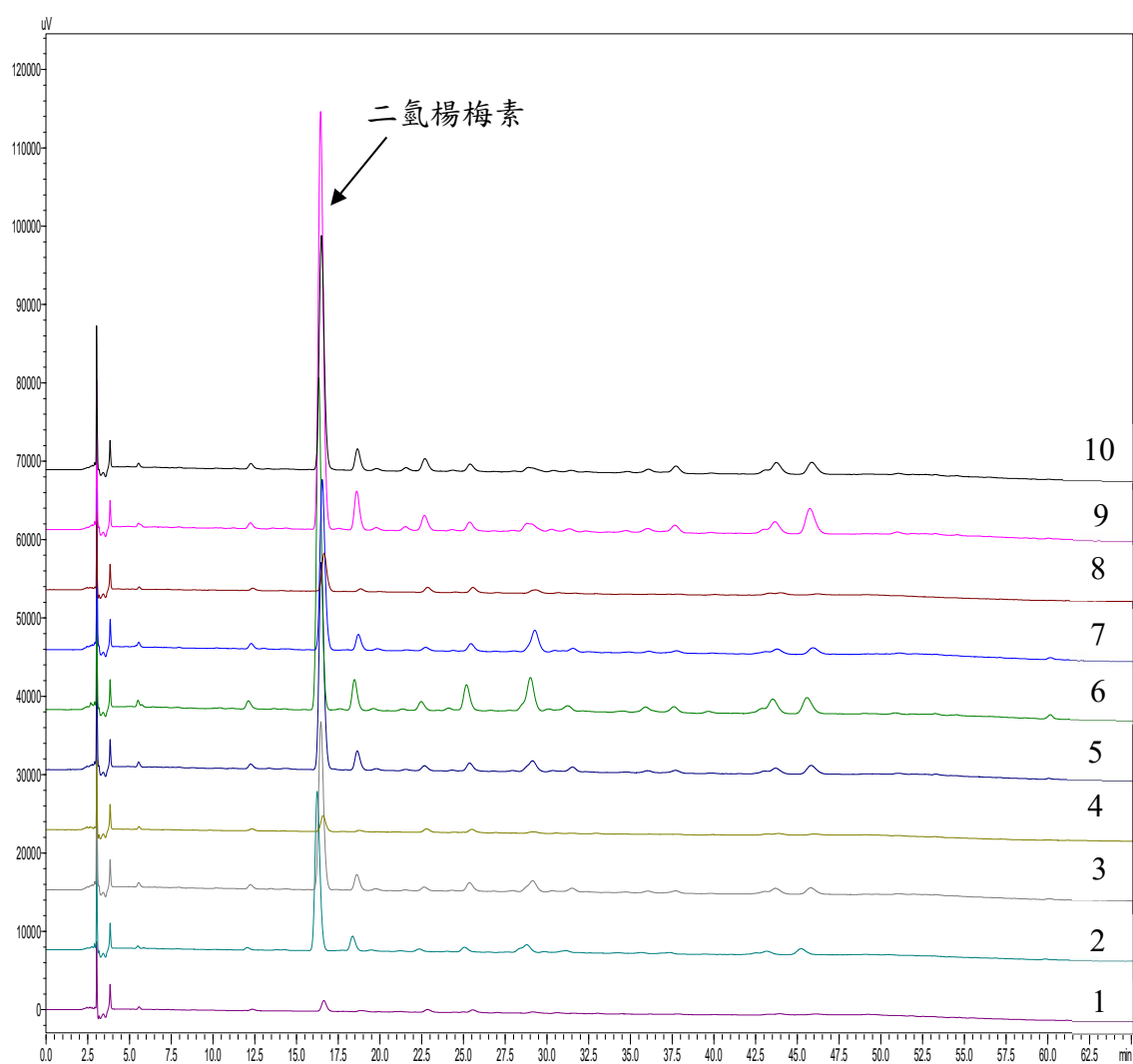
藥材編號 (No.)	二氫楊梅素含量 (%)
1 (NA)	0.029
2 (NWB)	0.567
3 (NX)	0.626
4 (CA-1)	0.046
5 (CB)	0.778
6 (CE)	1.233
7 (CH-1)	0.662
8 (CH-2)	0.123
9 (SK3)	1.545
10 (SK4)	0.892
平均值±S.D.	0.650±0.500

(十一) 枳椇子藥材之 HPLC 指紋圖譜的建立

取 10 批市售枳椇子藥材檢品溶液各 10 μ L 進樣，進行 HPLC 指紋圖譜的測定。

1. 層析管：SHIMADZU shim-pack GIST (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)
2. 檢測波長：UV 340 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：30 $^{\circ}$ C
5. 注入量：10 μ L
6. 移動相：

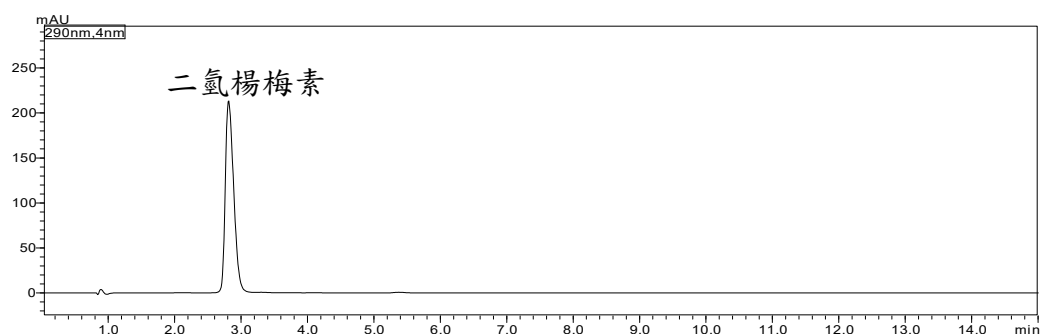
時間(min)	乙晴(%)	水(%)
0	13	87
35	20	80
45	20	80
55	30	70
65	34	66



圖六、10 批枳椇子藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 對照標準品二氫楊梅素之 UPLC 層析

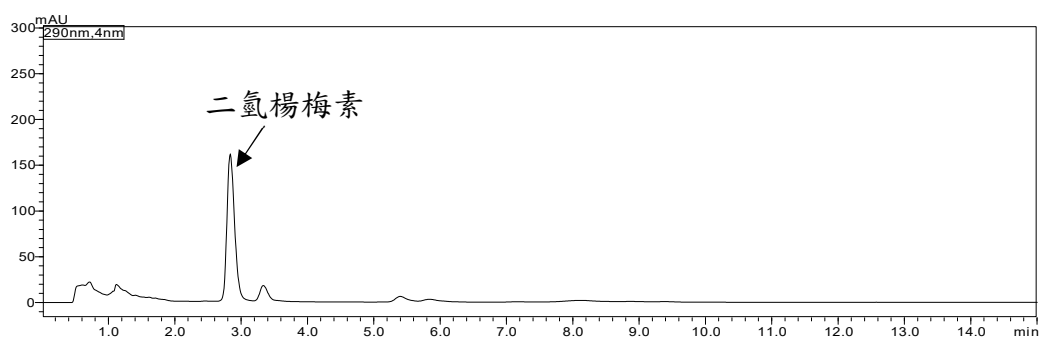
於滯留時間 2.81 分鐘處顯示二氫楊梅素對照標準品波峰(圖七)。



圖七、二氫楊梅素對照標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售枳椇子藥材檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 2.83 分鐘處顯示枳椇子藥材檢品中二氫楊梅素波峰(圖八)。

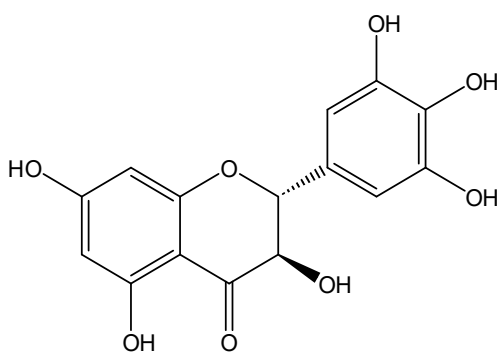


圖八、市售枳椇子藥材檢品之 UPLC 層析圖

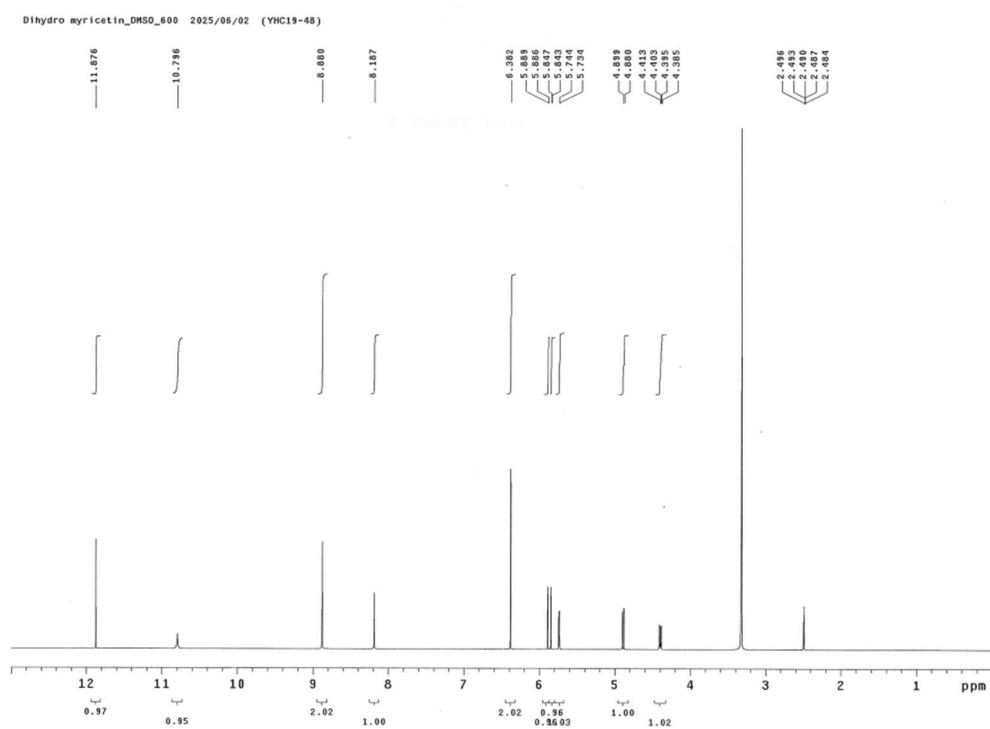
(十四) 二氫楊梅素的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{15}H_{12}O_8$ ；分子量：320.3；熔點：239-241 °C；米白色粉末。

(十五) 二氫楊梅素的結構

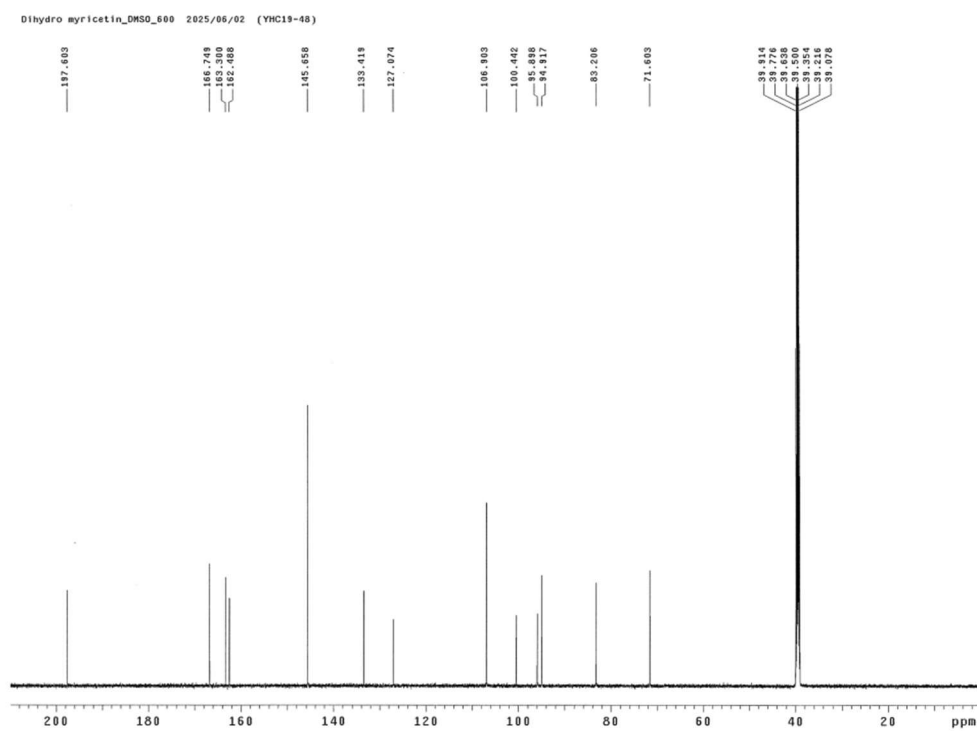


(十六) 二氫楊梅素的 ^1H NMR 圖譜



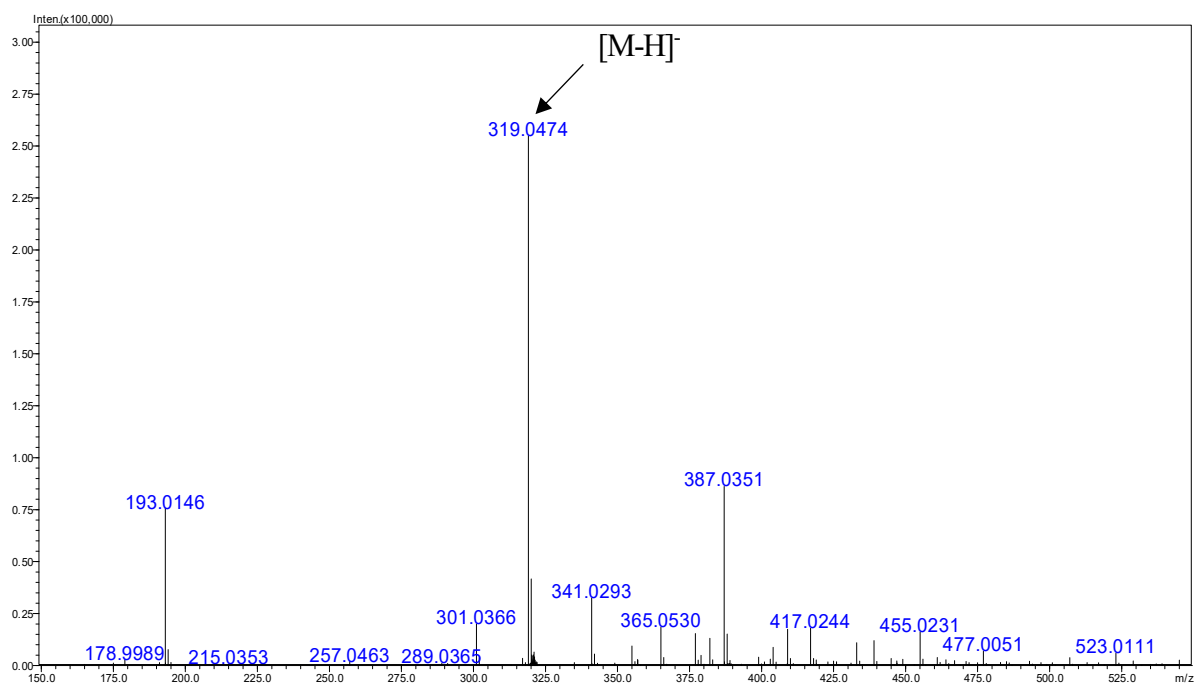
圖九、二氫楊梅素的 ^1H NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十七) 二氫楊梅素的 ^{13}C NMR 圖譜



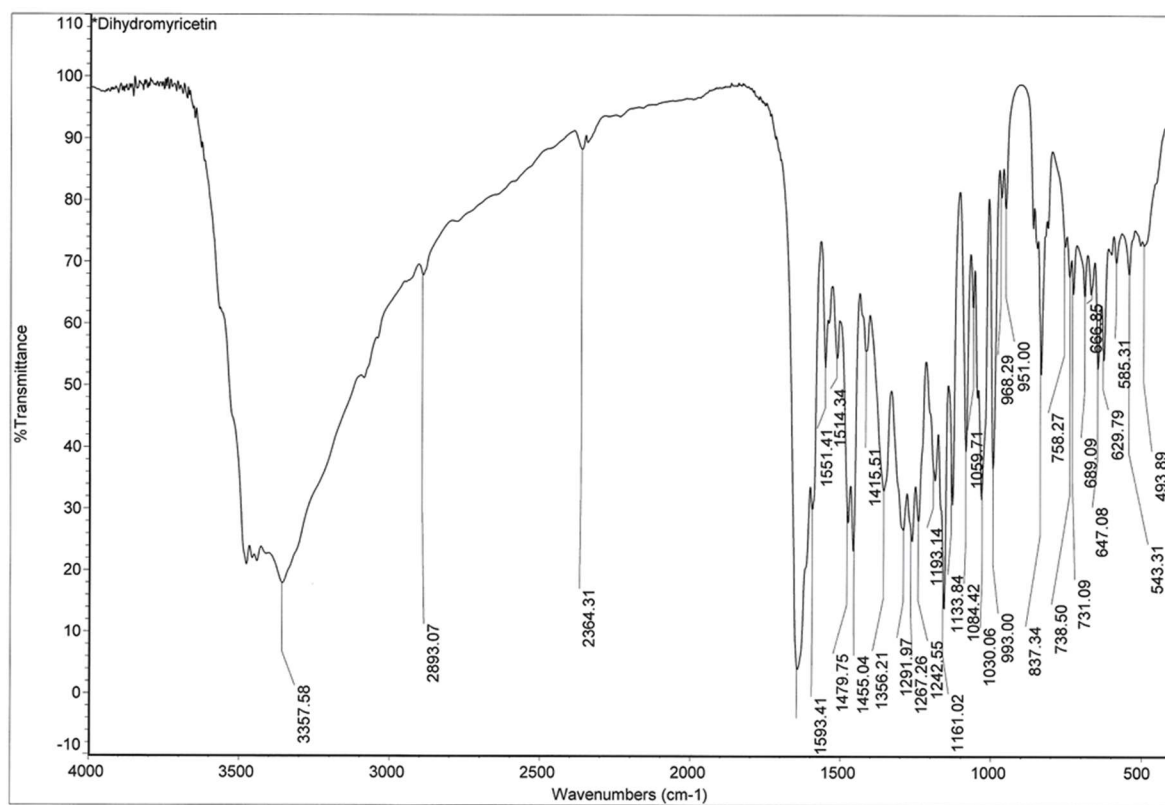
圖十、二氫楊梅素的 ^{13}C NMR 圖譜(DMSO- d_6)

(十八) 二氫楊梅素的 ESI-MS 圖譜



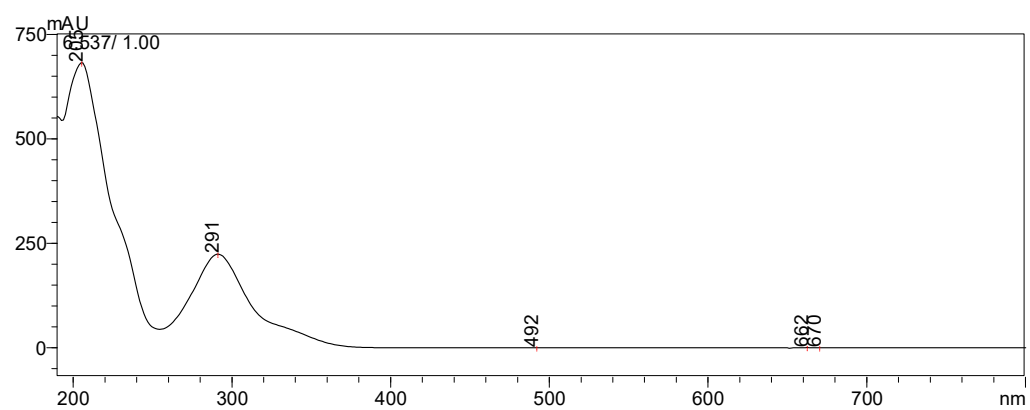
圖十一、二氫楊梅素的 ESI-MS 圖譜

(十九) 二氫楊梅素的 FTIR 圖譜



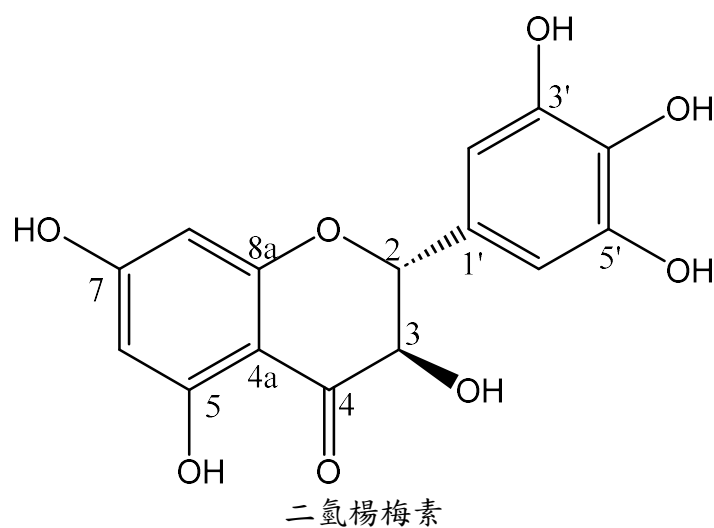
圖十二、二氫楊梅素的 FTIR 圖譜

(二十) 二氫楊梅素的 UV 圖譜



圖十三、二氫楊梅素的 UV 圖譜

(二十一) 二氫楊梅素的氫、碳化學位移



表八、二氫楊梅素的氫、碳化學位移(DMSO- d_6)^a

position	δ_H (600 MHz) ^a	δ_C (150 MHz)
2	4.89 (d, 10.8)	83.2
3	4.40 (dd, 10.8, 6.0)	71.6
4	-	197.6
4a	-	100.4
5	-	163.3
6	5.88 (d, 1.8)	95.9
7	-	166.7
8	5.84 (d, 1.8)	94.9
8a	-	162.5
1'	-	127.1
2',6'	6.38 (s)	106.9
3',5'	-	145.7
4'	-	133.4
3-OH	5.74 (d, 6.0)	-
5-OH	11.88 (s)	-
7-OH	10.80 (s)	-
3',5'-OH	8.88 (s)	-
4'-OH	8.19 (s)	-

^a(Multiplicity, J in Hz) in ppm.

各國藥典HPLC分析方法規範比較與建議

藥典		《臺灣中藥典》-IV	《中國藥典》2025版 一部	《香港中藥材標準》第九冊	自行研究
對照標準品		二氫楊梅素	未收載	二氫楊梅素	二氫楊梅素
含量限度		0.13%		0.42%	0.42%
檢品溶液製備		取本品粉末約1.0 g，精確稱定，置50 mL 密塞錐形瓶中，精確加甲醇25 mL，超音波振盪30 分鐘，過濾，取濾液移入50 mL 容量瓶中，殘渣部分重複提取1次，合併濾液，加甲醇至刻度。		精密稱取本品粉末0.2 g，置50-mL 離心管中，加50% 甲醇 15 mL，超聲處理 30 分鐘，離心 10 分鐘。取上清液轉移於 50-mL 量瓶中，重複提取2次，合併上清液，加50% 甲醇至刻度。	準確稱取本品粉末約1.0 g，置50 mL離心管中，準確加入50%乙醇25 mL，超音波振盪30分鐘，離心10分鐘，以No.1濾紙過濾，殘渣部分重複提取1次，合併濾液，移入50 mL之容量瓶中，加50%乙醇至刻度。
色譜洗脫條件		以乙腈：0.1% 磷酸溶液 (18：82)		乙腈(A)：0.1%磷酸溶液(B) 0-35' 12-20%(A) 35-45' 20-65%(A) 45-50' 65-95%(A)	以甲醇：水 (35：65)
檢測方法		檢測波長 290 nm		檢測波長 290 nm	檢測波長 290 nm
系統適用性	理論塔板數	按二氫楊梅素峰計算 ≥ 3000		按二氫楊梅素峰計算 ≥ 18000	按二氫楊梅素峰計算約7000
	分離度	≥ 1.5		≥ 1.5	≥ 1.5
優缺點說明及建議		1. 檢品製備溶媒為甲醇，萃出率約為50%乙醇的1/6，50%甲醇的1/4，萃出率偏低 2. 洗脫溶媒為乙腈，非綠色溶媒		1. 檢品製備採用50%甲醇萃取三次，萃取完全 2. 洗脫溶媒為乙腈，梯度洗脫較耗時，但理論塔板數較高	1. 檢品製備採用50%乙醇萃取二次，萃取完全 2. 洗脫溶媒採用甲醇 3. 等度洗脫較省時
含量限度		1. 臺灣中藥典二氫楊梅素限度為不少於0.13%，因其採用甲醇為溶媒進行萃取，萃出不完全，不能代表真實二氫楊梅素的含量。			

	2. 港標萃取溶媒為50%甲醇，採用較少樣品量，且萃取次數為三次，應萃取完全。二氫楊梅素限度為不少於0.42% 3. 目前自行開發的方法，採用50%乙醇為萃取溶媒，萃取效率較高，重複兩次可萃取完全。測得市售枳椇子的二氫楊梅素含量介於0.029-1.545%，各去掉兩個最高及最低離群值，二氫楊梅素含量均值約為0.61%，SD為0.26%。 4. 參考港標，擬修正枳椇子之二氫楊梅素限度為不少於0.42%
--	--

枳椇子

生藥名：HOVENIAE SEMEN

英文名：Raisin Tree Seed

基 原：本品為鼠李科 Rhamnaceae 植物枳椇 *Hovenia acerba* Lindl.之乾燥成熟種子。

一、方法

(一) 檢品溶液 【萃取方法 1】《臺灣中藥典》第四版

—取本品粉末 1.0 g，加乙醇 10 mL，置水浴加熱 30 分鐘，冷卻，過濾，濾液蒸乾，殘渣加乙醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】《香港中藥材標準》第九冊

—取本品粉末 1.0 g，加甲醇 10 mL，置 60°C 水浴加熱 30 分鐘，冷卻，過濾，濾液蒸乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】(自行開發 1)

—取本品粉末 1.0 g，加乙醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，作為檢品溶液。

【萃取方法 4】(自行開發 2) ✓

—取本品粉末 1.0 g，加 50%乙醇 10 mL，超音波振盪 30 分鐘，過濾，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取二氫楊梅素(Dihydromyricetin)對照標準品，加乙醇製成每 1 mL 含 1.0 mg 的溶液，作為對照標準品溶液。

(三) 薄 層 板 HPTLC silica gel 60 F₂₅₄，10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm

(四) 展 開 劑 【展開劑 1】《臺灣中藥典》第四版

—甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (10：8：5)

【展開劑 2】《香港中藥材標準》第九冊

—二氯甲烷：乙酸乙酯：甲酸 (10：8：5)

【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典》第四版 ✓

—甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：4：1)

(五) 展 開 槽 10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm CAMAG 雙槽展開槽

(六) 展 開 展開槽預先平衡 15 分鐘，上行展開，展開距離 8 cm。

(七) 顯色&檢視 紫外光(254 nm)照射下檢視之，或以 5%三氯化鋁/乙醇試液 (AlCl₃/EtOH TS)噴霧後，風乾，於紫外光(365 nm)照射下檢視之。

(八) Spike 配製 取採用最佳萃取方法之檢品溶液 9，與對照標準品溶液 (8:5)混合，點注量 13 μL。

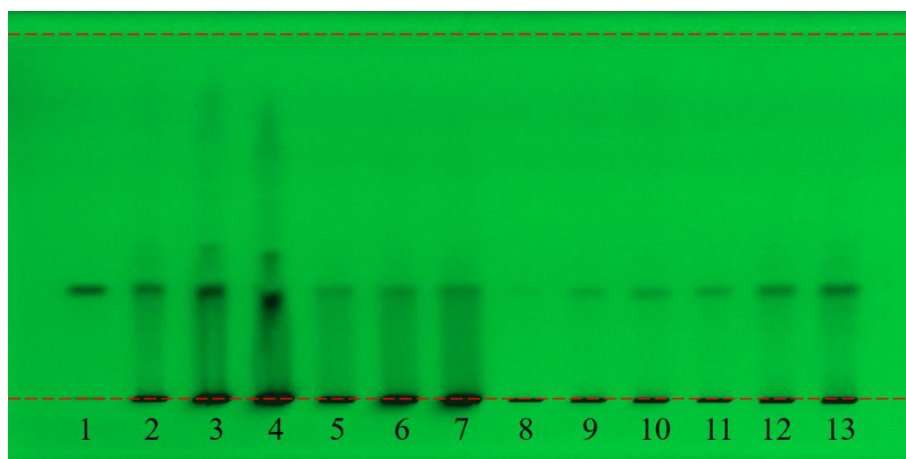
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：114/08/12

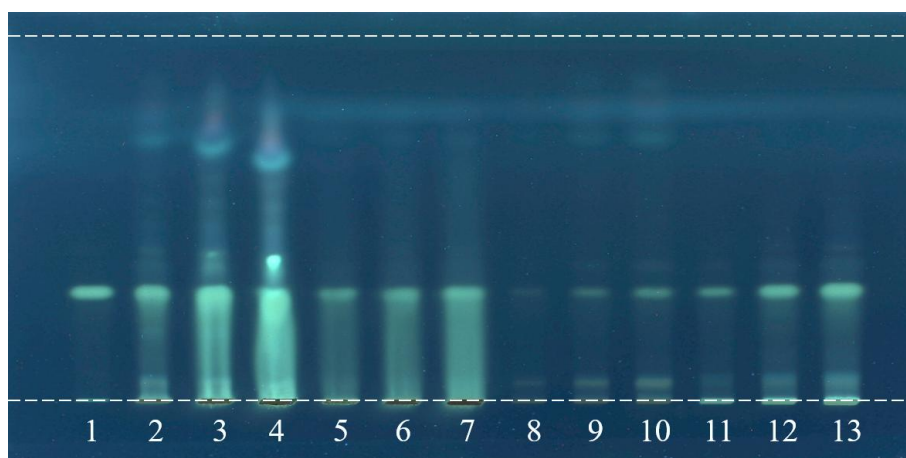
相對溼度(RH)：68%

溫度(RT)：26.6 °C

【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典》第四版——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：4：1)
——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出



——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



編號	名稱	點注量
1	二氫楊梅素(1.0 mg/mL)	5 μ L
2, 3, 4	檢品溶液 9【萃取方法 1】	2, 5, 8 μ L
5, 6, 7	檢品溶液 9【萃取方法 2】	2, 5, 8 μ L
8, 9, 10	檢品溶液 9【萃取方法 3】	2, 5, 8 μ L
11, 12, 13	檢品溶液 9【萃取方法 4】	2, 5, 8 μ L

建議萃法：4 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出二氫楊梅素，因濃度適中，方法簡便，故採用自行開發 2 之【萃取方法 4】。

建議點注量：二氫楊梅素 5 μ L，檢品溶液【萃取方法 4】8 μ L。

三、溶媒系統選擇

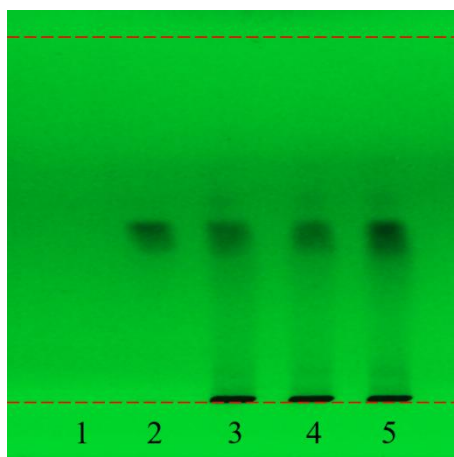
實驗日期：114/08/12

相對溼度(RH)：68%

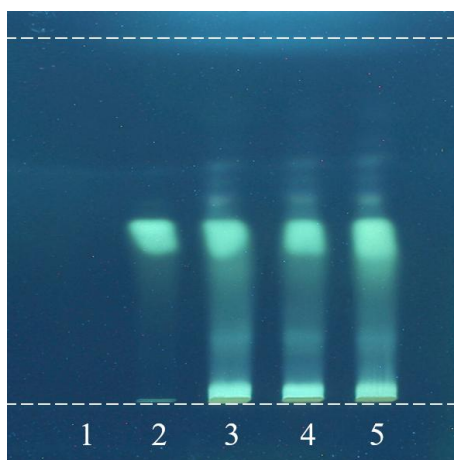
溫度(RT)：26.6 °C

【展開劑 1】《臺灣中藥典》第四版——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (10：8：5)

【萃取方法 4】(自行開發 2)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(二氫楊梅素 R_f 值為 0.48)

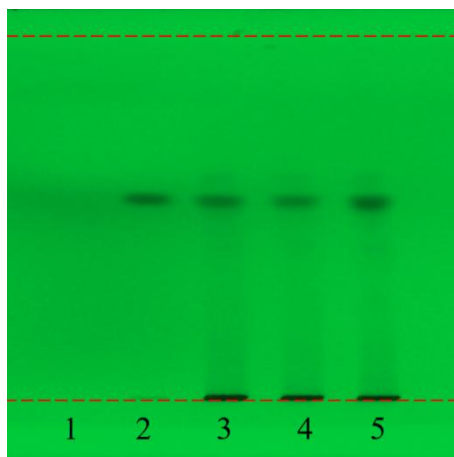


【萃取方法 4】(自行開發 2)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(二氫楊梅素 R_f 值為 0.48)

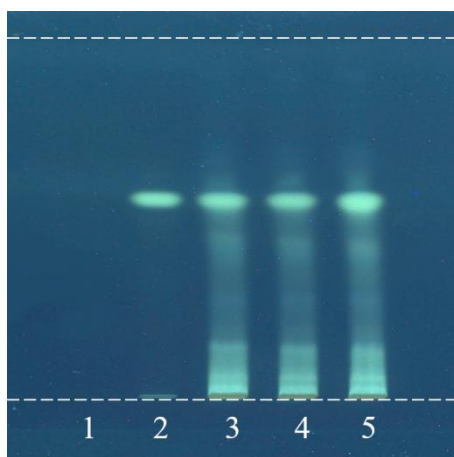


【展開劑 2】《香港中藥材標準》第九冊——二氯甲烷：乙酸乙酯：甲酸 (10：8：5)

【萃取方法 4】(自行開發 2)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(二氫楊梅素 R_f 值為 0.58)

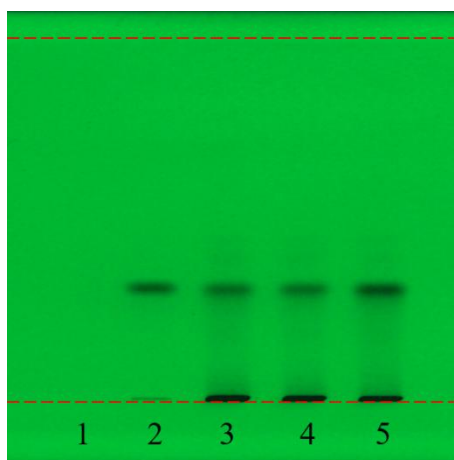


【萃取方法 4】(自行開發 2)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(二氫楊梅素 R_f 值為 0.58)

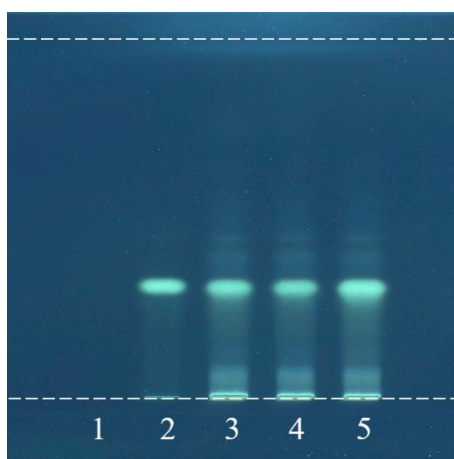


【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典》第四版——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：4：1)✓

【萃取方法 4】(自行開發 2)——HPTLC 紫外光(254 nm)檢出(二氫楊梅素 R_f 值為 0.32)



【萃取方法 4】(自行開發 2)——HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出(二氫楊梅素 R_f 值為 0.32)



1：Blank
2：二氫楊梅素
3，4：檢品溶液 9
5：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 4】方式，以修飾《臺灣中藥典》之【展開劑 3】展開二氫楊梅素之 R_f 值適中，分離佳，符合綠色化學，故採用修飾《臺灣藥典》之【展開劑 3】。

四、觀察方式選擇

實驗日期：114/08/12

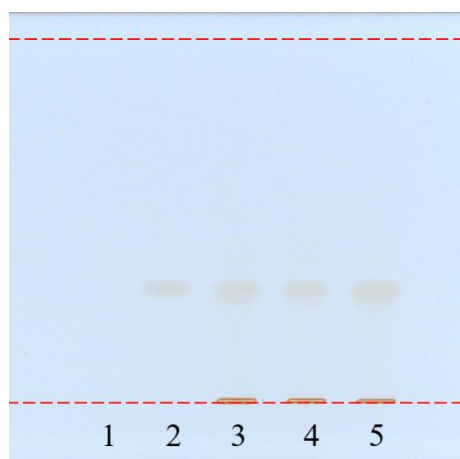
相對溼度(RH)：68%

溫度(RT)：26.6 °C

【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典》第四版——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：4：1)

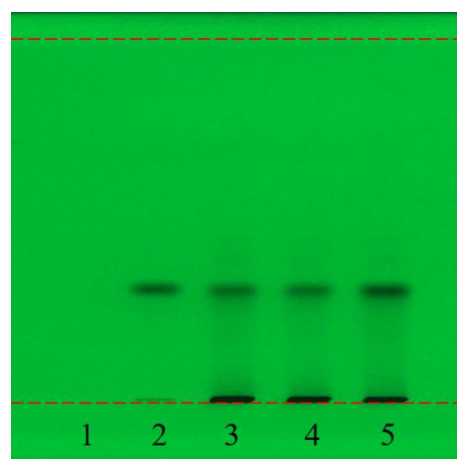
【萃取方法 4】(自行開發 2) —HPTLC

可見光檢出



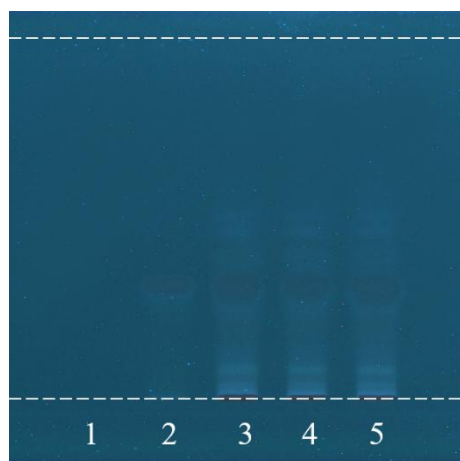
【萃取方法 4】(自行開發 2) — HPTLC

紫外光(254 nm)檢出✓



【萃取方法 4】(自行開發 2) —HPTLC

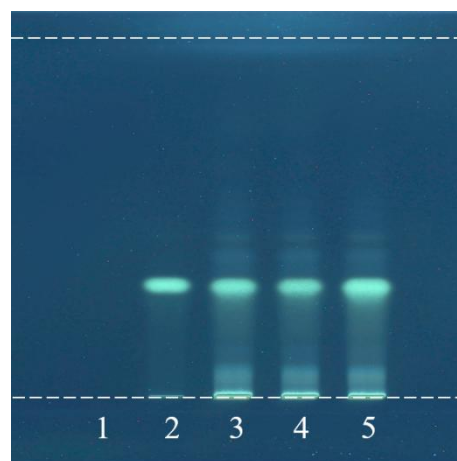
紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 4】(自行開發 2)

—HPTLC 5%三氯化鋁/乙醇顯色後

紫外光(365 nm)檢出✓



1：Blank

3，4：檢品溶液 9

2：二氫楊梅素

5：Spike

建議觀察方式：於紫外光(254 nm)或以 5%三氯化鋁/乙醇顯色後，風乾，於紫外光(365 nm)檢視顯示有較多較明顯分離之條帶。

五、十批枳椇子藥材樣品檢測

實驗日期：114/08/12

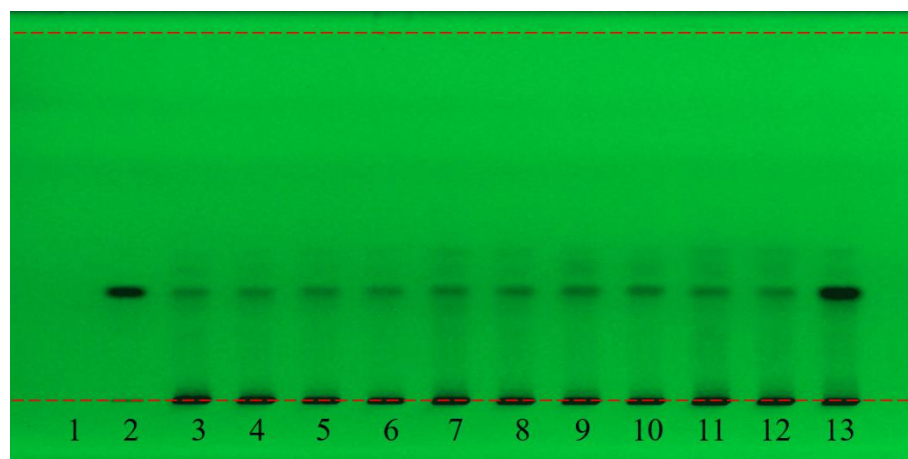
相對溼度(RH)：68%

溫度(RT)：26.6 °C

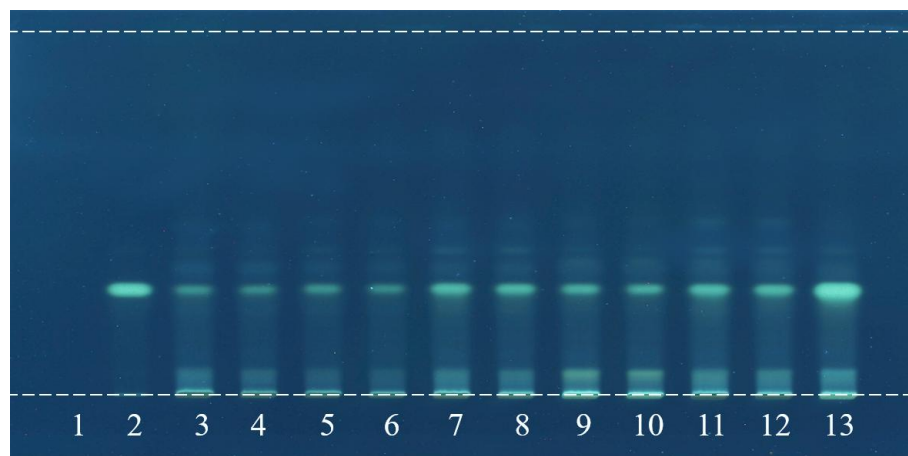
【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典》第四版——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：4：1)

【萃取方法 4】(自行開發 2)—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出

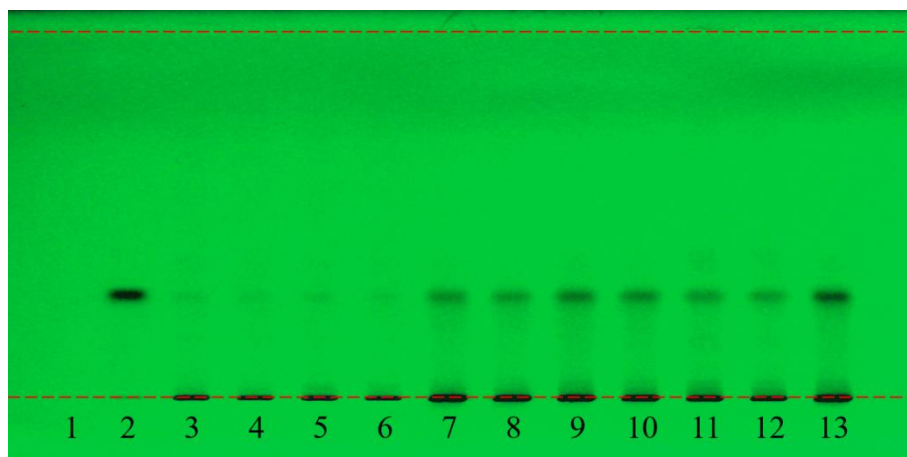


1	Blank	7, 8	檢品溶液 3 (CB)
2	二氫楊梅素(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 4 (CE)
3, 4	檢品溶液 1 (NWB)	11, 12	檢品溶液 5 (CH1)
5, 6	檢品溶液 2 (NX)	13	Spike (檢品溶液 9)

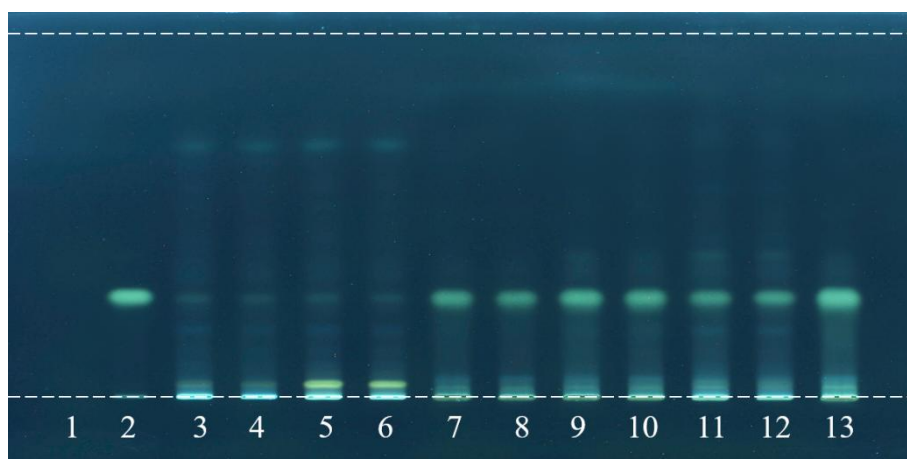
【展開劑 3】修飾《臺灣中藥典》第四版——甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：4：1)

【萃取方法 4】(自行開發 2)—HPTLC

(1) 紫外光(254 nm)檢出



(2) 5%三氯化鋁/乙醇顯色後紫外光(365 nm)檢出



1	Blank	7, 8	檢品溶液 8 (SK3)
2	二氫楊梅素(1.0 mg/mL)	9, 10	檢品溶液 9 (SK4)
3, 4	檢品溶液 6 (CA1)	11, 12	檢品溶液 10 (CH2)
5, 6	檢品溶液 7 (NA)	13	Spike (檢品溶液 9)

結論與建議：以自行開發 2 之【萃取方法 4】方式及修飾《臺灣中藥典》之【展開劑 3】分離與檢出二氫楊梅素較佳，以紫外光(254 nm)或以 5%三氯化鋁/乙醇顯色後，於紫外光(365 nm)下檢視較佳。